ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201711.01596v1

饲料中大豆油替代鱼油对银鲳运输前后应激指标及组织抗氧化能力的影响

张晨捷　高权新　彭士明*　施兆鸿　王建钢

（中国水产科学研究院东海水产研究所，农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室，上海 200090）

摘　要：本试验通过检测运输胁迫前后血清皮质醇、葡萄糖和乳酸浓度以及组织抗氧化性能的变化，以研究饲料中大豆油替代鱼油对银鲳运输前后应激指标及组织抗氧化能力的影响。试验配制 4 种试验饲料，分别以 100%鱼油(FO 组)、70%鱼油+30%大豆油(FSO 组)、30%鱼油+70%大豆油(SFO 组)、100%大豆油(SO 组)为脂肪源，饲喂平均体重（17.2±6.7） g 银鲳 60 d 后进行 4 h 运输胁迫。每种饲料饲喂 3 个水泥池（重复），每池投放 50 尾试验鱼。结果显示：4 h 运输胁迫后，各组血清皮质醇浓度均有所增加，其中 SO 组变化显著（$P<0.05$），升高 1.89 倍，SFO 组变化程度最小；各组血清葡萄糖浓度均略有增加，其中 SFO 组增加最少，但变化均不显著（$P>0.05$）；各组乳酸浓度则均出现显著增加（$P<0.05$），尤其是 SO 组；各组脑部乙酰胆碱酯酶(AChE)活力均出现显著减弱（$P<0.05$），而 SFO 组无论是在胁迫前还是在胁迫后在各组中均有最高活力；各组血清超氧化物歧化酶（SOD）活力均显著增强（$P<0.05$），其中 SO 组上升幅度最大；虽然各组血清过氧化氢酶（CAT）活力均有所增强，但只有 SO 组变化显著（$P<0.05$）；肝脏和肌肉 CAT 活力仅 SO 组显著增强（$P<0.05$），其余各组变化不显著（$P>0.05$）；SO 组血清 SOD 和 CAT 活力显著增强（$P<0.05$）。由此可见，SO 组银鲳在运输后机体健康情况较差，应激反应较为剧烈，说明投喂过量添加大豆油的饲料不利于银鲳的机体健康和长途运输，而在保持鱼油含量的前提下适当添加大豆油的效果较好。

关键词：银鲳；运输；脂肪酸；应激；抗氧化能力

中图分类号: S963　　文献标识码：　　文章编号：

银鲳(*Pampus argenteus*)隶属鲳科(Stromateidae)鲳属(*Pampus*)，在我国各海域均有分布[1]，以东海北部近海即吕四和舟山渔场的资源量最高，是沿海地区重要的经济鱼类，具有较高的养殖开发潜力[2]。自 21 世纪初，国内陆续开展了针对银鲳人工繁育及养殖方面的研究，尽管在人工繁育及养殖方面取得了一定的科技成果[3-4]，但规模化养殖及技术推广仍存在较大难度，其中运输问题是主要的限制因子之一，原因在于银鲳对闪光、噪声、人工操作、运输

收稿日期：2016-07-15

基金项目：上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字2013-2-1)；中央级公益性科研院所基本科研业务费(东2014Z02).

作者简介：张晨捷（1989-）男，研究实习员，硕士，从事海水鱼类生理、繁殖研究。E-mail: zhangchenjie1989@sina.com

*通信作者：彭士明，副研究员，硕士生导师，E-mail: shiming.peng@163.com

chinaXiv:201711.01596v1

等都有明显的应激反应，且反应强烈，造成体表大量分泌黏液、粉鳞脱落、擦伤和撞伤，极易死亡。长链多不饱和脂肪酸(long-chain polyunsaturated fatty acids,LC-PUFA)分为 n-3 和 n-6 系列，是鱼类维持正常生长发育和生理功能的重要营养物质，且主要从外界获取[5]。鱼油中 n-3 LC-PUFA 含量较高，鱼类饲料中常通过添加鱼油补充 LC-PUFA。由于目前鱼油原料短缺且价格昂贵，而植物油资源较丰富且价格低廉，因此植物油在饲料工业上常被用作鱼油替代品，但大部分植物油中 n-6 PUFA 含量较高，n-3 PUFA 含量较少甚至没有[6-7]。Villasante 等[8]研究显示：n-6 PUFA 与 n-3 PUFA 摄入比例不均衡会影响脂类代谢，造成某些脂类大量积累，进而增加鱼体组织中发生脂质过氧化的风险。另外，n-3 PUFA 比 n-6 PUFA 更容易发生脂质过氧化作用[9]。因此，饲料中保持适当的 n-3/n-6 PUFA 十分重要。组织中脂肪酸组成的改变会引起机体抗氧化水平的相应变化，其产生的氧化压力将削弱机体抗应激和抗氧化的能力。

应激反应是一种对外界刺激的保护性措施，包括运动协调性、激素水平、能量代谢和电解质平衡等的变化[10]。但持续处于应激状态会导致机体的需氧代谢紊乱，产生氧化自由基，并且免疫防御体系将会受到抑制，导致鱼体对病原敏感性的增加[11-12]。血液中皮质醇（COR）、葡萄糖(GLU)以及乳酸(LD)浓度随应激程度的不同呈规律性变化，可作为反映应激程度的指标[13]。另外，运输过程中的机械损伤也会引发细菌和真菌感染，导致运输后一段时间内发生持续死亡现象[14]。乙酰胆碱酯酶(acetyl-cholinesterase，AChE)是神经传导中的关键酶，在突触间降解乙酰胆碱，终止神经递质对突触后膜的兴奋作用，保证神经信号的正常传递。银鲳应激反应强烈，运输存活率低，运输后存活个体也会出现行为和生理异常，例如：受刺激后通常会越出水面、撞击池壁或网箱，过度兴奋后又会原地打转或打漂，并难以恢复正常。因此，本试验通过在饲料添加大豆油替代不同比例的鱼油饲喂银鲳，研究其在运输胁迫前后血清皮质醇、葡萄糖、乳酸浓度以及 AChE 活力和组织抗氧化能力的变化情况，旨在为银鲳运输前饲料组成配比和体质强化提供参考。

1 材料与方法

1.1 饲料制备

分别以 100%鱼油（FO 组）、70%鱼油+30%大豆油（FSO 组）、30%鱼油+70%大豆油（SFO 组）、100%大豆油（SO 组）为脂肪源配制等氮等能等脂的 4 种试验饲料，其组成及营养水平见表 1，脂肪酸组成见表 2。4 种试验饲料的蛋白质水平均在 50%左右，脂肪水平均在 16%左右。所有饲料原料经过充分混合后经绞肉机制成粒径为 2 mm 的颗粒料，于 25 ℃烘箱中风干后，放于-20 ℃冰箱中保存备用。

表 1 试验饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)

项目 Items	组别 Groups			
	FO	FSO	SFO	SO
原料 Ingredients (g/kg)				
鱼粉 Fish meal[1)]	610	610	610	610
豆粕 Soybean meal[1)]	160	160	160	160
面粉 Wheat flour[1)]	100	100	100	100
鱼油 Fish oil	100	70	30	0
大豆油 Soybean oil	0	30	70	100
维生素预混料 Vitamin premix[2)]	20	20	20	20
矿物质预混料 Mineral premix[3)]	10	10	10	10
合计 Total	1 000	1 000	1 000	1 000
营养水平 Nutrient levels/%				
粗蛋白质 Crude protein	49.62	49.95	49.73	50.14
粗脂肪 Crude fat	16.29	16.36	16.46	16.02
粗灰分 Ash	10.43	9.98	10.12	10.01
n-3 长链多不饱和脂肪酸 n-3 LC-PUFA[4)]	5.18	4.01	3.02	2.22

[1)] 鱼粉、豆粕和面粉的粗蛋白质与粗脂肪含量（干物质基础）分别为 67%、10.0%，43%、1.9%，12%、1.6%。The contents of crude protein and crude fat（DM basis）in fish meal, soybean meal and wheat flour were 67% and 10.0%, 43% and 1.9%, 12% and 1.6%, respectively.

[2)]维生素预混料为每千克饲料提供 Vitamin premix supplied the following per kg of diets：肌醇 *myo*-inositol 400 mg，烟酸 nicotinic acid 150 mg，泛酸钙 calcium pantothenate 44 mg，VB_2 20 mg，VB_6 12 mg，VK_3 10 mg，VB_1 10 mg，VA 7.3 mg，叶酸 folic acid 5 mg，生物素 biotin 1 mg，VD_3 0.06 mg，VB_{12} 0.02 mg，VC 400 mg，VE 500 mg。

[3)]矿物质预混料为每千克饲料提供 Mineral premix supplied the following per kg of diets：KH_2PO_4, 22 g，$FeSO_4·7H_2O$ 1.0 g，$ZnSO_4·7H_2O$ 0.13 g，$MnSO_4·4H_2O$ 52.8 mg，$CuSO_4·5H_2O$ 12 mg，$CoSO_4·7H_2O$ 2 mg，KI 2 mg。

[4)] 依据饲料粗脂肪含量×总 n-3 LC-PUFA 百分比计算。Calculated from dietary crude lipid content×Σn-3 LC-PUFA percentage。

表 2 试验饲料脂肪酸组成（占总脂肪酸的百分比）

Table 2 Fatty acid composition of experimental diets (percentage of total fatty acids) %

脂肪酸 Fatty acids	组别 Groups			
	FO	FSO	SFO	SO
饱和脂肪酸 SFA	29.10	28.86	27.01	25.06
单不饱和脂肪酸 MUFA	28.94	28.19	28.08	27.36
C18:2n-6	7.41	11.15	20.75	27.71
C18:3n-6	0.18	0.24	0.28	0.30
C20:4n-6	3.13	1.69	0.71	0.63
n-6 多不饱和脂肪酸 n-6 PUFA	10.72	13.08	21.74	28.64

chinaXiv:201711.01596v1

C18:3n-3	1.23	1.94	2.94	3.62
C20:3n-3	0.23	0.20	0.16	0.14
C20:5n-3	14.92	12.06	8.65	5.97
C22:5n-3	1.81	1.51	1.18	0.92
C22:6n-3	12.82	10.75	8.34	6.82
n-3 多不饱和脂肪酸 n-3 PUFA	31.00	26.45	21.27	17.46
n-3/n-6 多不饱和脂肪酸 n-3/n-6 PUFA	2.89	2.02	0.98	0.61
n-3 长链多不饱和脂肪酸 n-3 LC-PUFA	29.78	24.51	18.33	13.84

1.2 试验设计与取样

挑选 600 尾体表无伤、体色正常的银鲳幼鱼（4 月龄）为试验鱼，初始规格：平均体重（17.2±6.7） g，平均叉长（8.5±0.9） cm。将 600 尾试验鱼平均分配于 12 个 16 m^3 的圆形水泥池中，并随机分为 4 个饲料组，每组 3 个重复（水泥池），每池 50 尾试验鱼。预饲 1 周，饲养试验自 2013 年 8 月开始，于 2013 年 9 月结束，共计 60 d。饲养期间，养殖水泥池 24 h 不间断充气，每天饱食投喂 2 次（08:00 和 16:00），日换水量为 40%。整个试验期间水温变化范围为 24～29 ℃，盐度 24～27。

饲养试验结束后从每个水泥池取 3 尾鱼作为胁迫前样本(n=9)。而后从每个水泥池取 3 尾进行 4 h 运输胁迫，将 3 尾鱼放入 40 L 塑料打包袋，加 15 L 新鲜海水并充满氧气，用橡皮筋扎住袋口密封，放入 50 L 容积泡沫箱，共 12 箱。用卡车运输 4 h，以碎冰保持运输水温为 22～24 ℃，4 h 运输胁迫后，出现少量死亡，故每袋取 2 尾作为胁迫后样本(n=6)。样品鱼随机选取，规格相近，平均体重为（34.8±5.8） g，平均叉长为（10.9±1.1） cm。

样本捞取后立即经 100 mg/L MS-222 麻醉，然后用 1 mL 无菌注射器尾静脉采血，置于无菌离心管中，4 ℃静止 12 h，4 000 r/min 离心 15 min，取其上清液。采血后，在碎冰上解剖取两侧肌肉、肝脏、脑部组织。用生理盐水润洗并用滤纸片吸干水分，血清、肌肉、肝脏和脑部置于-70 ℃保存备用。

1.3 指标检测

血清皮质醇浓度的测定采用酶联免疫吸附测定（ELISA）法，试剂盒为美国 R&D 公司生产的海水鱼皮质醇 ELISA 试剂盒。血清葡萄糖和乳酸浓度采用分光光度法测定。

AChE 活力采用胆碱巯基显色剂法测定，酶活力单位(U/mg prot 或 U/mL)定义为：每毫克组织蛋白质或每毫升血清在 37 ℃保温 6 min，水解 1 mol 基质为 1 个活力单位。超氧化物歧化酶(SOD)活力采用黄嘌呤氧化酶法测定，酶活力单位(U/mg prot 或 U/mL)定义为：每毫克组织蛋白质或每毫升血清在 1 mL 反应液中超氧自由基抑制率达 50%时所对应的 SOD 量

chinaXiv:201711.01596v1

为 1 个活力单位。过氧化氢酶(CAT)活力采用比色法测定，酶活力单位(U/mg prot 或 U/mL)定义为：每毫克组织蛋白质或每毫升血清每秒钟分解 1 μmol H_2O_2 的量为 1 个活力单位。上述酶活力采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定，按说明书操作。

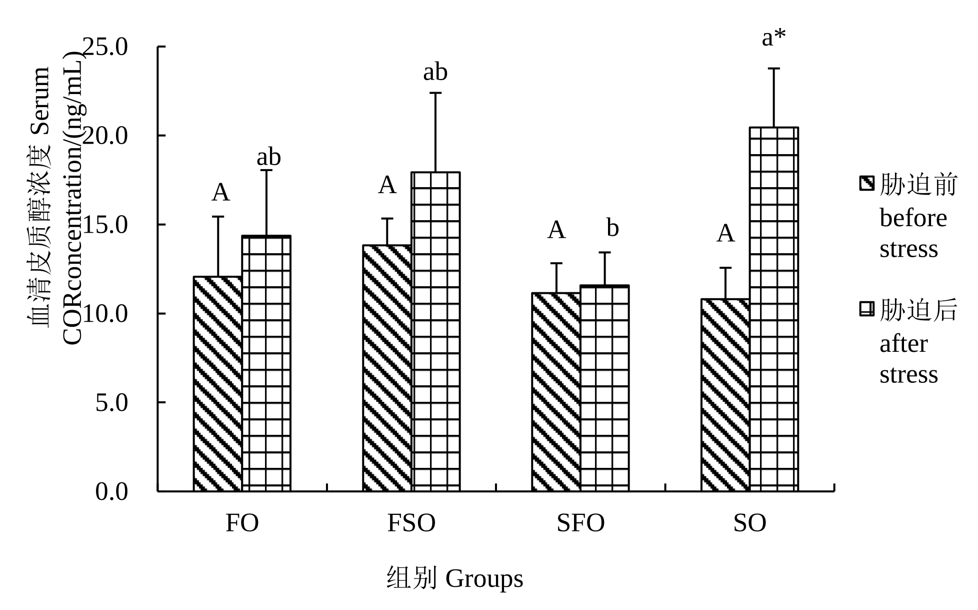
1.4 数据处理与分析

试验数据以平均值±标准差(mean±SD)表示，采用 SPSS 19.0 软件对银鲳各项指标数据进行统计与分析，运用单因素方差分析和双因素方差分析，先进行方差齐性检验，不满足方差齐性时，对数据进行自然对数或平方根转换，采用 Duncan 氏法对各组数据进行多重比较，P<0.05 为存在显著性差异。用 t 检验检测运输胁迫前后的变化，P<0.05 为存在显著性差异。用 Excel 2007 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 银鲳血清皮质醇浓度

4 h 运输胁迫前后各组银鲳血清皮质醇浓度变化情况如图 1 所示。运输胁迫前各组血清皮质醇浓度差异不显著(P>0.05)。4 h 运输胁迫后，各组血清皮质醇浓度都有所升高，其中 SO 组上升显著(P<0.05)，并且显著高于 SFO 组(P<0.05)。血清皮质醇浓度最高值出现在胁迫后 SO 组，为（20.45±3.31） ng/mL，最低值出现在胁迫前 SO 组，为（10.81±1.75） ng/mL。



数据柱标注不同大写字母表示胁迫前各组间存在显著差异(P<0.05)，不同小写字母表示胁迫后各组间存在显著差异(P<0.05)，*表示胁迫后与胁迫前存在显著差异(P<0.05)。下图同。

Date column with different capital letters indicated significant difference among groups before stress (P<0.05), with different small letters indicated significant difference among groups

chinaXiv:201711.01596v1

ChinaXiv合作期刊

after stress (P<0.05), and with * indicated significant difference between before and after stress. The same as below.

图 1 运输胁迫对银鲳血清皮质醇浓度的影响

Fig.1 Effects of transportation stress on serum COR concentration of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

2.2 银鲳血清葡萄糖浓度

4 h 运输胁迫前后各组银鲳血清葡萄糖浓度变化情况如图 2 所示。运输胁迫前各组银鲳血清葡萄糖浓度差异不显著(P>0.05)。4 h 运输胁迫后各组血清葡萄糖浓度都出现了上升，但胁迫前后差异不显著(P>0.05)，各组间也不存在显著差异(P>0.05)。血清葡萄糖浓度最高值出现在胁迫后 SO 组，为(3.37±0.44) mmol/L，最低值出现在胁迫前 SFO 组，为(2.53±0.42) mmol/L。

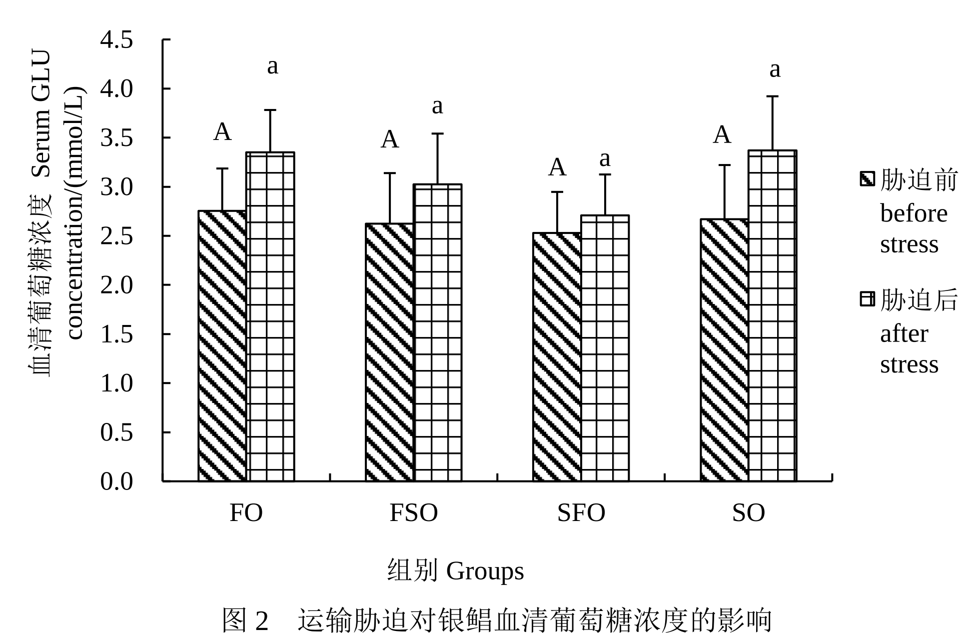


图 2 运输胁迫对银鲳血清葡萄糖浓度的影响

Fig.2 Effects of transportation stress on serum GLU concentration of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

2.3 银鲳血清乳酸浓度

4 h 运输胁迫前后各组银鲳血清乳酸浓度变化情况如图 3 所示。运输胁迫前各组血清乳酸浓度差异不显著(P>0.05)。4 h 运输胁迫后，各组乳酸浓度都出现显著增加(P<0.05)，而各组间不存在显著差异(P>0.05)。血清乳酸浓度最高值出现在胁迫后 FO 组，为（3.14±0.52） mmol/L，最低值出现在胁迫前 SO 组，为（1.18±0.54） mmol/L。

chinaXiv:201711.01596v1

ChinaXiv合作期刊

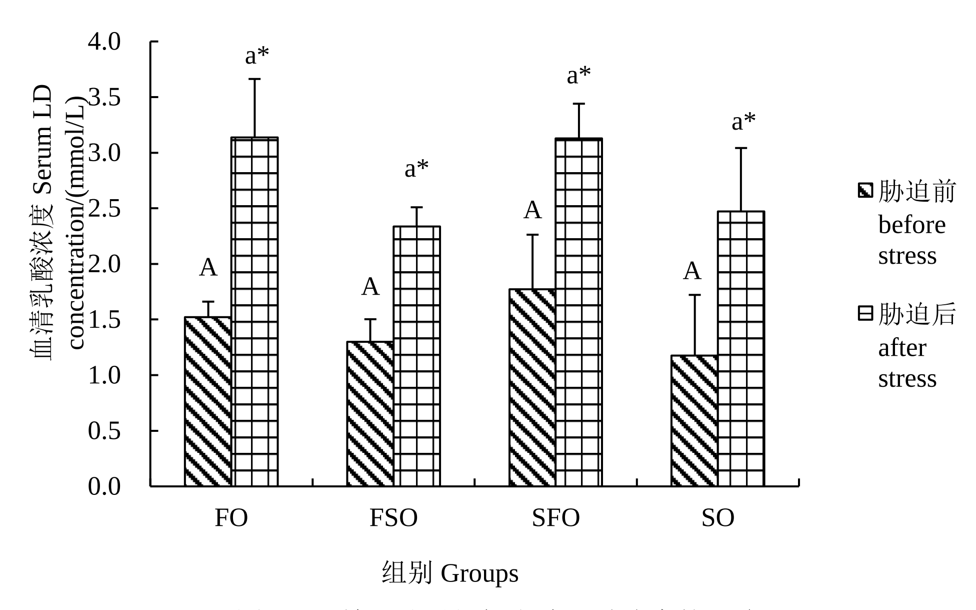


图 3　运输胁迫对银鲳血清乳酸浓度的影响

Fig.3　Effects of transportation stress on serum LD concentration of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

chinaXiv:201711.01596v1

2.4 银鲳血清、脑部 AChE 活力

4 h 运输胁迫前后各组银鲳血清 AChE 活力变化情况如图 4 所示。胁迫前 SFO 组血清 AChE 活力显著高于其他组(P<0.05)。4 h 运输胁迫后，FO、FSO 和 SFO 组血清 AChE 活力出现了下降，其中 FSO 组下降显著(P<0.05)；而 SO 组略有上升，但差异不显著(P>0.05)；SFO 和 SO 组显著高于其他组(P<0.05)。血清 AChE 活力最高值出现在胁迫前 SFO 组，为（1.30±0.25） U/mL，最低值出现在胁迫后 FSO 组，为（0.66±0.10） U/mL。

4 h 运输胁迫前后各组银鲳脑部 AChE 活力变化情况如图 5 所示。胁迫前 FSO 和 SFO 组脑部 AChE 活力显著高于 SO 和 FO 组(P<0.05)。4 h 运输胁迫后，各组脑部 AChE 活力都出现了显著下降(P<0.05)，下降后 SFO 组依然显著高于 FO 组(P<0.05)。脑部 AChE 活力最高值出现在胁迫前 SFO 组，为（2.39±0.22） U/mg prot，最低值出现在胁迫后 FO 组，为（1.19±0.20） U/mg prot。

chinaXiv:201711.01596v1

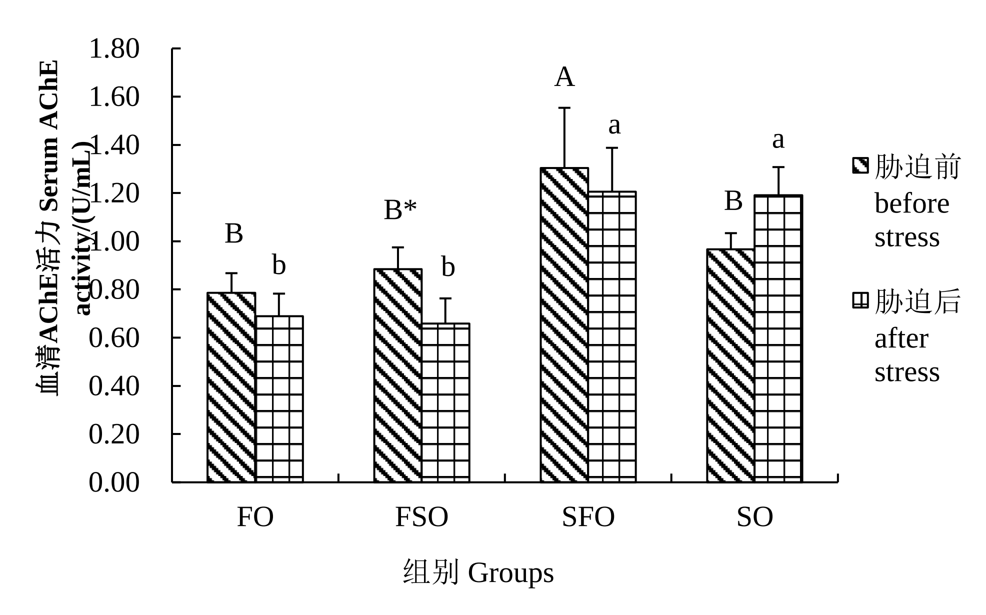


图 4　运输胁迫对银鲳血清 AChE 活力的影响

Fig.4　Effects of transportation stress on serum AChE activity of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

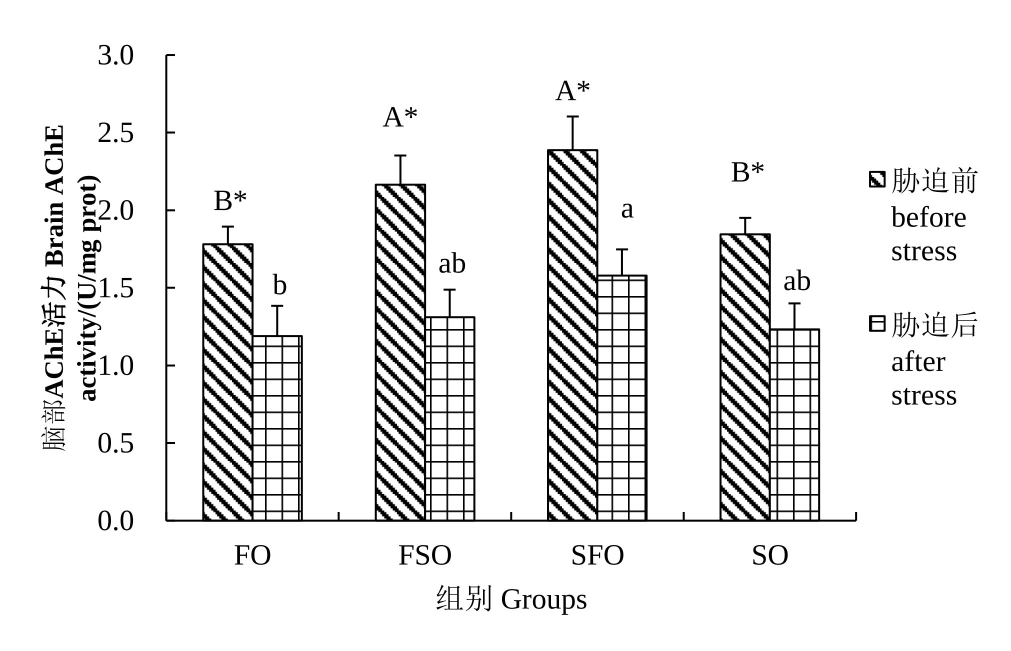


图 5　运输胁迫对银鲳脑部 AChE 活力的影响

Fig. 5 The effects of transportation stress on AChE activity in brain of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

2.5 银鲳血清、肝脏和肌肉 SOD 活力

4 h 运输胁迫前后各组银鲳血清 SOD 活力变化情况如图 6 所示。胁迫前 SO 组血清 SOD

活力显著低于其他组(P<0.05)。4 h 运输胁迫后，各组血清 SOD 活力都出现显著增强(P<0.05)，FSO 组显著高于 FO 和 SO 组(P<0.05)。血清 SOD 活力最高值出现在胁迫后 FSO 组，为（78.1±5.7） U/mL，最低值出现在胁迫前 SO 组，为（29.8±6.6） U/mL。

4 h 运输胁迫前后各组银鲳肝脏和肌肉 SOD 活力变化情况如图 7 所示。胁迫前 SFO 组肌肉 SOD 活力显著高于 FO 和 SO 组(P<0.05)。4h 运输胁迫后，FO、FSO 和 SFO 组肌肉 SOD 活力出现了下降，而 SO 组则有所上升，但变化均不显著(P>0.05)；SFO 和 SO 组显著高于 FO 和 FSO 组(P<0.05)。肌肉 SOD 活力最高值出现在胁迫前 SFO 组，为（27.1±6.6） U/mg prot，最低值出现在胁迫前 SO 组，为（14.7±4.6） U/mg prot。胁迫前 FO 组肝脏 SOD 活力显著高于其他组(P<0.05)，而 FSO 组显著低于其他组(P<0.05)。4 h 运输胁迫后，除 SFO 组肝脏 SOD 活力有所上升外，其他组均显著下降(P<0.05)；各组间差异不显著(P>0.05)。肝脏 SOD 活力最高值出现在胁迫前 FO 组，为（166.1±24.2） U/mg prot，最低值出现在胁迫前 SFO 组，为（52.4±4.8） U/mg prot。

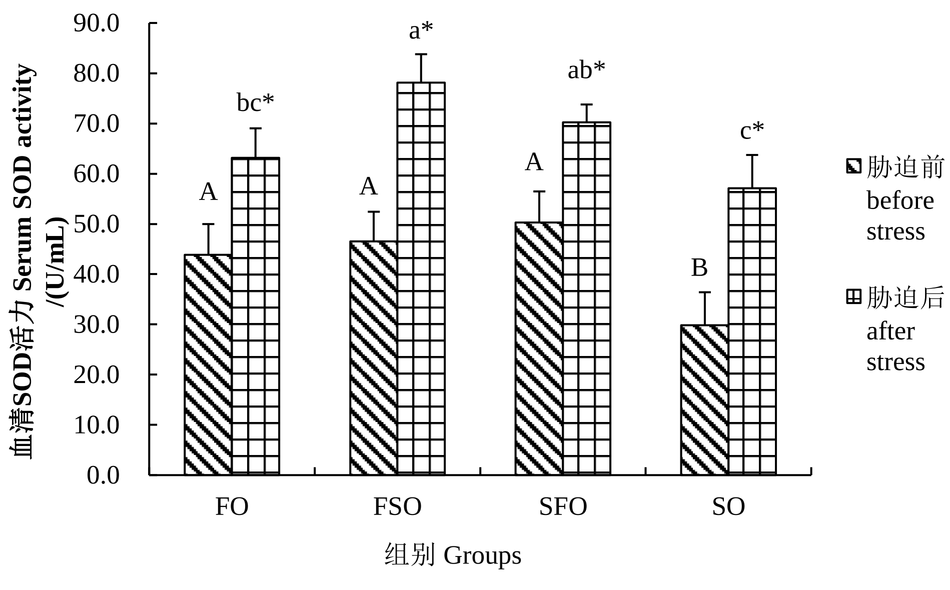


图 6 运输胁迫对银鲳血清 SOD 活力的影响

Fig.6 Effects of transportation stress on serum SOD activity of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

chinaXiv:201711.01596v1

chinaXiv:201711.01596v1

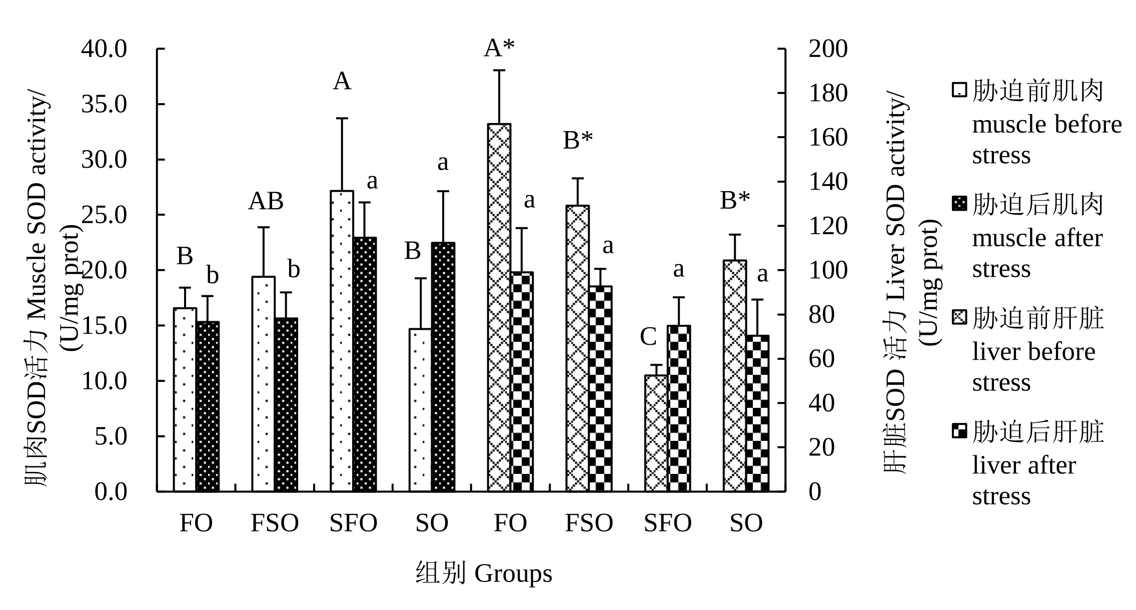


图 7　运输胁迫对银鲳肌肉和肝脏 SOD 活力的影响

Fig.7　Effects of transportation stress on SOD activity in muscle and liver of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

2.6　银鲳血清、肝脏和肌肉 CAT 活力

4 h 运输胁迫前后各组银鲳血清 CAT 活力变化情况如图 8 所示。胁迫前 SFO 组血清 CAT 活力显著高于其他组($P<0.05$)。4 h 运输胁迫后，各组 CAT 活力都有所增加，其中 SO 组变化显著($P<0.05$)；各组间差异不显著($P>0.05$)。血清 CAT 活力最高值出现在胁迫后 SO 组，为（1.93±0.19） U/mL，最低值出现在胁迫前 FSO 组，为（1.28±0.09） U/mL。

4 h 运输胁迫前后各组银鲳肝脏和肌肉 CAT 活力变化情况如图 9 所示。胁迫前 SFO 组肌肉 CAT 活力显著高于其他组($P<0.05$)。4 h 运输胁迫后，除 SFO 组肌肉 CAT 活力略有下降外，其他组都出现了增强，其中 SO 组变化显著($P<0.05$)；SO 组显著高于 FO 和 FSO 组($P<0.05$)。肌肉 CAT 活力最高值出现在胁迫后 SO 组，为（0.97±0.18） U/mg prot，最低值出现在胁迫前 SO 组，为（0.45±0.08） U/mg prot。胁迫前 FO 组肝脏 CAT 活力显著高于其他组($P<0.05$)。4 h 运输胁迫后，FO 和 FSO 组肝脏 CAT 活力出现下降，SFO 和 SO 组则出现上升，其中 SO 组变化显著($P<0.05$)；FSO 组显著低于 FO 和 SO 组($P<0.05$)。肝脏 CAT 活力最高值出现在胁迫后 SO 组，为（1.73±0.24） U/mg prot，最低值出现在胁迫后 SO 组，为（0.40±0.09） U/mg prot。

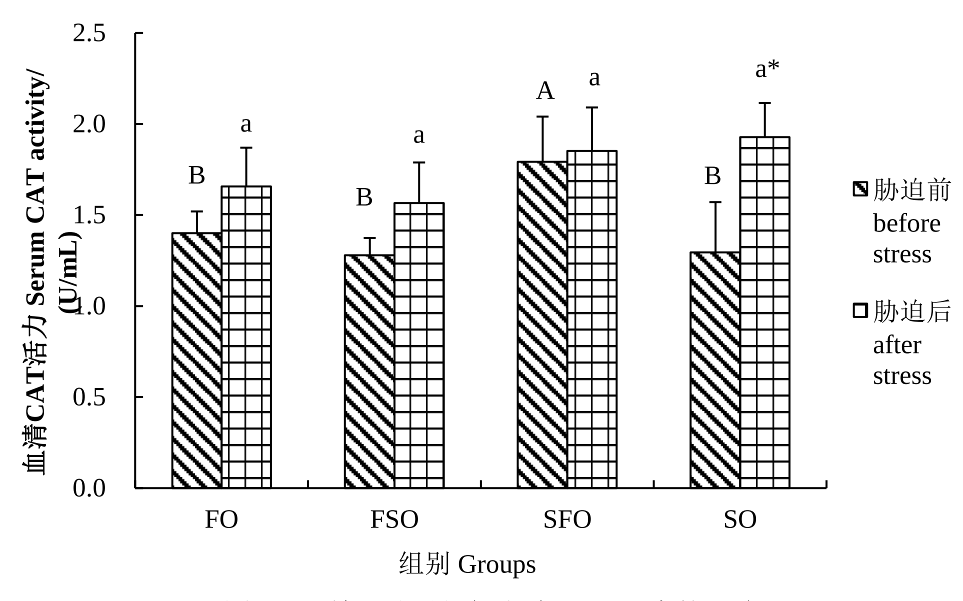


图 8　运输胁迫对银鲳血清 CAT 活力的影响

Fig.8　Effects of transportation stress on serum CAT activity of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

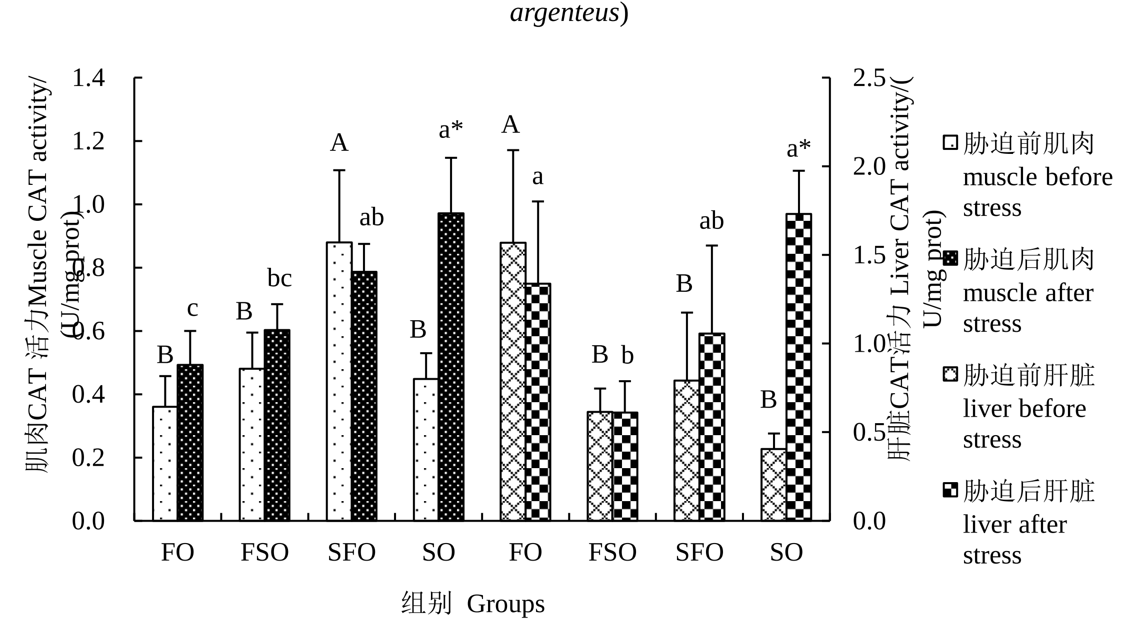


图 9　运输胁迫对银鲳肌肉和肝脏 CAT 活力的影响

Fig.9　Effects of transportation stress on CAT activity in muscle and liver of silver pomfret (*Pampus argenteus*)

2.7 油脂替代与运输胁迫的交互作用

油脂替代与运输胁迫对各指标的交互作用如表 3 所示。油脂替代、运输胁迫以及两者交互作用对肝脏 SOD 和肌肉、肝脏 CAT 活力有显著影响(P<0.05)。油脂替代和运输胁迫对血清皮质醇、乳酸浓度，SOD、CAT 活力以及脑部 AChE 活力都有显著影响(P<0.05)，但两者交互作用对上述指标的影响不显著(P>0.05)。油脂替代对血清 AChE、肌肉 SOD 活力的影响

chinaXiv:201711.01596v1

显著，运输胁迫对血清葡萄糖浓度的影响显著(P< 0.05)。

表 3 油脂替代与运输胁迫双因素方差分析

Table 3 Two-way analysis of variance about oil substitution and transportation stress

	油脂替代 Oil substitution		运输胁迫 Transportation stress		交互作用 Interaction	
	F 值 *F*-value	*P* 值 *P*-value	*F* 值 *F*-value	*P* 值 *P*-value	*F* 值 *F*-value	*P* 值 *P*-value
血清皮质醇 Serum COR	3.266	0.049*	12.071	0.003*	2.812	0.073
血清葡萄糖 Serum GLU	1.026	0.407	5.597	0.031*	0.337	0.799
血清乳酸 Serum LD	3.990	0.027*	63.852	<0.001*	0.512	0.680
血清 AChE Serum AChE	20.072	<0.001*	0.769	0.394	2.984	0.062
脑部 AChE Brain AChE	10.542	<0.001*	106.279	<0.001*	0.916	0.455
血清 SOD Serum SOD	12.529	<0.001*	104.134	<0.001*	1.529	0.245
肌肉 SOD Muscle SOD	5.863	0.007*	0.044	0.836	2.872	0.069
肝脏 SOD Liver SOD	23.602	<0.001*	22.124	<0.001*	9.316	0.001*
血清 CAT Serum CAT	3.935	0.028*	13.105	0.002*	1.946	0.163
肌肉 CAT Muscle CAT	11.251	<0.001*	10.163	0.006*	5.723	0.007*

chinaXiv:201711.01596v1

ChinaXiv合作期刊

肝脏 CAT Liver CAT	5.866	0.007*	5.560	0.031*	5.710	0.007*

*表示影响显著。

* indicated the significant effect.

3 讨　论

鱼体体质的差异会影响其在运输过程中的应激程度以及运输后的成活率。运输期间的水质变化如溶氧浓度降低、氨氮浓度增高、pH 变化，会使鱼体代谢需氧量和体表面黏液分泌量增加，也会对鱼机体和器官造成氧化压力，影响基因的表达和酶的活力[15-16]。另外，运输后银鲳存活个体经常出现头部、鳃部、鳍条和眼睛炎症，也常有打转、打漂等运动失调的状况存在。运输后恢复情况，不同银鲳个体也存在较大差异，有些个体会留下终生创伤，如失明、鳍条缺损等。本试验中，4 h 运输胁迫后 FO 组死亡 2 条，FSO 组和 SFO 组死亡各 1 条，SO 组死亡 3 条，各组运输死亡率差别不大。

3.1 运输胁迫对各组银鲳应激指标的影响

鱼类受外界胁迫刺激后，其下丘脑-垂体-肾间组织轴(HPI)会迅速释放促肾上腺皮质激素(ACTH)，以促进头肾细胞皮质醇激素的合成与释放[17]。杜浩等[18]研究得出，血清皮质醇浓度的增加会诱发鱼体代谢速率加快，各组织对葡萄糖的利用率降低，并导致抗病、抗氧化及耐低氧能力下降。

在运输胁迫后，鱼类体内皮质醇浓度普遍会显著上升，例如：虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)[19]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)[20]、革胡子鲶(*Clarias gariepinus*)[21]、欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)[22]和维多利亚野鲮(*Labeo victorianus*)[23]都在运输不同时间后出现血清皮质醇浓度显著上升的情况。而有些鱼类反应较强烈，在 2 h 运输后，长江刀鲚(*Coilia nasus*)血清皮质醇浓度升高 2.5 倍[24]，而美洲鲥(*Alosa sapidissima*)血清皮质醇浓度升高达 20 倍[17]，翘嘴鲌(*Culter alburnus*)全鱼皮质醇浓度升高 2 倍[25]。

葡萄糖作为机体的主要功能物质，鱼类血清葡萄糖浓度会随应激程度的不同而发生改变。Iversen 等[26]研究表明，应激反应可导致鱼类血清葡萄糖浓度明显升高，出现高血糖症，但维持高血清葡萄糖浓度有助于保障鱼体经受应激胁迫时提供能量供给。乳酸主要是肌肉在供氧不足的情况下通过糖酵解产生的，水体溶氧浓度低、血液循环缓慢以及剧烈的物理运动都可导致乳酸浓度升高。

运输胁迫后，美洲鲥[17]、虹鳟[19]血清葡萄糖浓度显著升高，大黄鱼全鱼乳酸浓度显著增加[20]，而刀鲚血清葡萄糖浓度在 2 h 运输后升高 2 倍[24]。维多利亚野鲮在淡水、低盐度(0～

chinaXiv:201711.01596v1

0.5)、高盐度（8～10)运输环境下血清葡萄糖浓度均显著上升[23]。运输胁迫后，欧洲鳗鲡血清葡萄糖浓度略有上升，而乳酸浓度则显著下降，据 Boerrigter 等[22]解释，乳酸转化为丙酮酸可提供能量，并可在鳃、肾脏和肝脏中作为能量来源。

彭士明等[27]对银鲳运输的相关研究（运输时间与密度以及饲料维生素 C 水平的关系）显示：4 h 运输胁迫后，银鲳血清皮质醇、葡萄糖和乳酸浓度升高最为显著，且高密度组浓度最高，而饲料添加维生素 C 后，上述 3 各指标的上升幅度显著小于对照组[28]。本试验中，4 h 运输胁迫后各组血清皮质醇浓度都有所增加，与之前其他鱼类运输胁迫的研究结果相似，其中 SO 组变化显著，升高了 1.89 倍，说明 SO 组的应激反应比较剧烈，而 SFO 组变化程度最小，应激反应相对较弱；而各组血清葡萄糖浓度都略有增加，其中 SFO 组增加最少。从双因素方差分析结果来看，运输胁迫对血清皮质醇、葡萄糖和乳酸浓度都有显著影响，而油脂替代仅对血清皮质醇和乳酸浓度有显著影响，可以推测血清葡萄糖浓度的升高是由于运输胁迫所造成的，而油脂替代会对鱼体皮质醇的调节以及乳酸代谢产生影响，从而造成应激性能的差异。其中血清，乳酸浓度的升高在 3 个指标中表现最为显著，FO 组升高 2.06 倍、FSO 组升高 1.79 倍、SFO 组升高 1.76、SO 组升高 2.11 倍，这可能是由于银鲳在运输过程中出现了过度兴奋和剧烈的物理运动，或是有氧代谢失调导致。

植物油替代鱼油会对鱼类的消化道产生不良影响，如肠壁变薄、黏膜褶皱变少，最终会影响脂肪酸的吸收，从而影响鱼类抗应激能力[29]。本试验饲料的高不饱和脂肪酸（HUFA）组成中，虽然豆油替代鱼油后 n-3/n-6 PUFA 逐渐下降，但花生四烯酸（ARA）和二十碳五烯酸（EPA）、二十二碳六烯酸（DHA）含量也是随之逐渐下降，而亚麻酸和亚油酸含量则出现上升，这种组分的变化应当对海水鱼类银鲳的脂类消化吸收造成了影响。从血清葡萄糖和乳酸浓度的变化看，SFO 和 FSO 组对运输的应激程度较低，可能是幼鱼饲料中鱼粉含量较高，且鱼油中的 ARA、EPA 和 DHA 基本能满足其营养需求，提高亚麻酸和亚油酸含量反而有助于抗应激。

AChE 主要分布于神经组织、红细胞和肌肉中，作为神经递质，AChE 的活力变化会对鱼类运动和协调能力产生较大影响，并进一步作用于能量合成和代谢通路[30-31]。本试验中，各组银鲳脑部 AChE 活力都出现显著减弱，而 SFO 组在胁迫前后的各组中均有最高活力，说明银鲳在运输时都处于兴奋的状态，SFO 组的兴奋程度在各组中相对较低，血清 AChE 活力则是 FSO 组下降程度最显著，可推测 FSO 组兴奋程度最高。双因素方差分析显示油脂替代对血清和脑部 AChE 活力都有显著影响，说明脂肪酸的组成例如 EPA、DHA 含量对鱼类脑部敏感性会产生一定作用。

chinaXiv:201711.01596v1

chinaXiv:201711.01596v1

3.2 运输胁迫对各组银鲳抗氧化性能的影响

鱼类抗氧化防御系统分为酶促与非酶促两大部分[32]。SOD 和 CAT 是 2 个重要的抗氧化酶，SOD 与 CAT 能有效清除体内的超氧阴离子自由基(O^{2-}•)、游离氧(O)、羟自由基(•OH)和过氧化氢（H_2O_2）等活性氧物质[33-34]。而 LC-PUFA 又是非酶促系统重要的抗氧化活性物质。

抗氧化功能是鱼类抗应激能力的重要组成部分，研究显示运输胁迫对鱼类抗氧化功能有显著影响。例如，运输胁迫后，日本黄姑鱼(*Nibea japonica*)肝脏 SOD 和 CAT 活力显著升高[35]；刀鲚肝脏 CAT 活力显著降低[36]；红鳍扯旗鱼(*Hyphessobrycon callistus*)肝脏 SOD 活力和总抗氧化能力增强[13]；银鲶(*Rhamdia quelen*)肝脏 CAT 活力显著下降，而 SOD 活力变化不显著[15]。

本试验中，4 h 运输胁迫后，各组血清 SOD 活力均显著增强，其中 SO 组上升幅度最大，上升 1.91 倍，虽然血清 CAT 活力各组都有所增强，但只有 SO 组变化显著。肝脏和肌肉 CAT 活力仅 SO 组显著增强。4 h 运输胁迫后，SFO 组肝脏 SOD 和 CAT 活力变化显示其对应激的反应较迅速。SO 组肝脏 CAT 和 SOD 活力变化极为显著，说明 SO 组的抗氧化反应十分剧烈。

肝脏是鱼类对脂类和有害物质吸收、代谢的主要器官，应激会影响肝脏的吸收和转运功能[37]。从双因素方差分析看，运输胁迫、油脂替代以及两者交互作用对肝脏 SOD 和 CAT 活力都有显著影响。饲料中 n-3 LC-PUFA 含量过高，导致在体内大量聚集，必然会代谢更多脂类氧化副产物，需要肝脏提高抗氧功能予以消除，同时消耗更多能量与营养储备以维持氧化平衡。作为海水鱼类，银鲳对 n-3 LC-PUFA 的需求量较高，其含量过低会抑制抗氧化酶的活力，从而影响机体功能。运输胁迫前 FO 组肝脏 SOD 和 CAT 活力均最高，说明其体内氧化和抗氧化的平衡值较高，而 4 h 运输胁迫后 FO 组肝脏 SOD 活力与其他组差异不显著，CAT 活力与 SO 组类似，可能是原来运用维持平衡的抗氧化酶被氧化应激所消耗，说明饲料 n-3 LC-PUFA 含量偏高同样不利于银鲳机体健康。

本试验中，各组银鲳终末体重分别为：FO 组，（37.8±3.8） g；FSO 组，（39.9±4.0） g；SFO 组，（34.6±3.7g）；SO 组，（26.6±3.0） g，SO 组体重增长明显低于其他组，可以看出豆油过多替代鱼油会对银鲳生长造成负面影响。

4 结　论

虽然 4 h 运输胁迫后各组死亡率差别不大，但结合应激和抗氧化指标，发现 SO 组银鲳在运输后机体健康情况较差，应激反应较为剧烈，说明投喂过量添加大豆油的饲料不利于银

鲳的机体健康和长途运输，而在保持鱼油含量的前提下适当添加大豆油的效果较好。

参考文献：

[1]刘静,李春生,李显森.中国鲳属鱼类的分类研究[J].海洋科学集刊,2002(44):240–252.

[2]孙鹏飞,戴芳群,陈云龙,等.长江口及其邻近海域渔业资源结构的季节变化[J].渔业科学进展,2015,36(6):8–16.

[3]施兆鸿,彭士明,王建钢,等.人工养殖银鲳子代的胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察[J].中国水产科学,2011,18(2):267–274.

[4]彭士明,施兆鸿,孙鹏,等.养殖密度对银鲳幼鱼生长及组织生化指标的影响[J].生态学杂志,2010,29(7):1371–1376.

[5]XIE D,WANG S,YOU C,et al.Characteristics of LC-PUFA biosynthesis in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus* under different ambient salinities[J].Aquaculture Nutrition,2015,21(5):541–551.

[6] TURCHINI G M,TORSTENSEN B E,NG W K.Fish oil replacement in finfish nutrition[J].Reviews in Aquaculture,2009,1(1):10–57.

[7]蒋湘辉,骆小年,金广海,等.不同蛋白质和脂肪水平饲料对拉氏鱼岁幼鱼生长、体成分和免疫力的影响[J].动物营养学报,2016,28(3):864–871.

[8] VILLASANTE A,PATRO B,CHEW B,et al.Dietary intake of purple corn extract reduces fat body content and improves antioxidant capacity and n-3 polyunsaturated fatty acid profile in plasma of rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*[J].Journal of the World Aquaculture Society,2015,46(4):381–394.

[9]田晶晶,雷彩霞,吉红.饲料亚油酸/亚麻酸比率对松浦镜鲤生长和健康状况的影响[J].淡水渔业,2015,45(5):76–82.

[10]URBINATI E C,ABREU J S D,CAMARGO A C D S,et al.Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*,Characidae) at various densities[J].Aquaculture,2004,229(1/2/3/4):389–400.

[11]王文博,李爱华.环境胁迫对鱼类免疫系统影响的研究概况[J].水产学报,2002,26(4):368–374.

[12] KING H R.Fish transport in the aquaculture sector:an overview of the road transport of

chinaXiv:201711.01596v1

ChinaXiv合作期刊

Atlantic salmon in Tasmania[J].Journal of Veterinary Behavior,2009,4(4):163–168.

[13] PAN C H,CHIEN Y H,WANG Y J.The antioxidant capacity response to hypoxia stress during transportation of characins (*Hyphessobrycon callistus* Boulenger) fed diets supplemented with carotenoids[J].Aquaculture Research,2010,41(7):973–981.

[14] PARODI T V,CUNHA M A,BECKER A G,et al.Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish,*Rhamdia quelen*[J].Fish Physiology and Biochemistry,2014,40(2):323–334.

[15] AZAMBUJA C R,MATTIAZZI J,RIFFEL A P,et al.Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport[J].Aquaculture,2011,319(1/2):156–161.

[16] DHANASIRI A K S,FERNANDES J M O,KIRON V.Glutamine synthetase activity and the expression of three *glul* paralogues in zebrafish during transport[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part B,2012,163(3/4):274–284.

[17]杜浩,危起伟,甘芳,等.苯唑卡因对美洲鲥运输应激的缓解作用研究[J].中国水产科学,2006,13(5):787–793.

[18]杜浩,危起伟,甘芳,等.美洲鲥应激后皮质醇激素和血液生化指标的变化[J].动物学杂志,2006,41(3):80–84.

[19] TACCHI L,LOWREY L,MUSHARRAFIEH R,et al.Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture,2015,435:120–127.

[20]张伟,王有基,李伟明,等.运输密度和盐度对大黄鱼幼鱼皮质醇、糖元及乳酸含量的影响[J].水产学报,2014,38(7):973–980.

[21] MANUEL R,BOERRIGTER J,ROQUES J,et al.Stress in African catfish (*Clarias gariepinus*) following overland transportation[J].Fish Physiology and Biochemistry,2014,40(1):33–44.

[22] BOERRIGTER J G J,MANUEL R,VAN DEN BOS R,et al.Recovery from transportation by road of farmed European eel (*Anguilla anguilla*)[J].Aquaculture

chinaXiv:201711.01596v1

Research,2015,46(5):1248–1260.

[23] OYOO-OKOTH E,CHEROP L,NGUGI C C,et al.Survival and physiological response of *Labeo victorianus* (Pisces:Cyprinidae,Boulenger 1901) juveniles to transport stress under a salinity gradient[J].Aquaculture,2011,319(1/2):226–231.

[24]徐钢春,杜富宽,聂志娟,等.10‰盐度对长江刀鲚幼鱼装载和运输胁迫中应激指标的影响[J].水生生物学报,2015,39(1):66–72.

[25]胡培培,刘汝鹏,赵忠波,等.运输时间和密度对翘嘴鲌皮质醇、耗氧率及氧气袋内水质的影响[J].水生生物学报,2014,38(6):1190–1194.

[26]IVERSEN M,FINSTAD B,MCKINLEY R S,et al.Stress responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts during commercial well boat transports,and effects on survival after transfer to sea[J].Aquaculture,2005,243(1/2/3/4):373–382.

[27]彭士明,施兆鸿,李杰,等.运输胁迫对银鲳血清皮质醇、血糖、组织中糖元及乳酸含量的影响[J].水产学报,2011,35(6):831–837.

[28]PENG S M,SHI Z H,FEI Y,et al.Effect of high-dose vitamin C supplementation on growth,tissue ascorbic acid concentrations and physiological response to transportation stress in juvenile silver pomfret,*Pampus argenteus*[J].Journal of Applied Ichthyology,2013,29(6):1337–1341.

[29]MOLDAL T,LØKKA G,WIIK-NIELSEN J,et al.Substitution of dietary fish oil with plant oils is associated with shortened mid intestinal folds in Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J].BMC Veterinary Research,2014,10:60.

[30] BECKER A G,PARODI T V,GONÇALVES J F,et al.Ectonucleotidase and acetylcholinesterase activities in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to different salinities[J].Biochemical Systematics and Ecology,2013,46:44–49.

[31]ASSIS C R D D,LINHARES A G,OLIVEIRA V M,et al.Characterization of catalytic efficiency parameters of brain cholinesterases in tropical fish[J].Fish Physiology and Biochemistry,2014,40(6):1659–1668.

[32] MARTÍNEZ-ÁLVAREZ R M,MORALES A E,SANZ A.Antioxidant defenses in fish:biotic

chinaXiv:201711.01596v1

and abiotic factors[J].Reviews in Fish Biology and Fisheries,2005,15(1/2):75–88.

[33]曾本和,廖增艳,吴双,等.饲料脂肪水平对大鳞副泥鳅幼鱼生长性能、消化酶活性及抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2016,28(4):1105–1113.

[34] KANAK E G,DOGAN Z,EROGLU A,et al.Effects of fish size on the response of antioxidant systems of *Oreochromis niloticus* following metal exposures[J].Fish Physiology and Biochemistry,2014,40(4):1083–1091.

[35]孙鹏,柴学军,尹飞,等.运输胁迫下日本黄姑鱼肝脏抗氧化系统的响应[J].海洋渔业,2014,36(5):469–474.

[36]高金伟,杜富宽,顾若波,等.运输应激对刀鲚生理生化指标和HPI轴基因表达影响及甘草甜素的作用[J].上海海洋大学学报,2015,24(6):817–825.

[37]MOZANZADEH M T,MARAMMAZI J G,YAVARI V,et al.Dietary n-3 LC-PUFA requirements in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*)[J].Aquaculture,2015,448:151–161.

Substitution of Dietary Fish Oil with Soybean Oil Influences Stress Indexes and Tissue Antioxidant Function of Silver Pomfret (*Pampus argenteus*) before and after Transportation

ZHANG Chenjie GAO Quanxin PENG Shiming* SHI Zhaohong WANG Jiangang

(*East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai* 200090, *China*)

Abstract: Through detecting the changes of serum cortisol, glucose, lactate concentrations and tissue antioxidant indexes, the influences of substitution of dietary fish oil with soybean oil on stress indexes and tissue antioxidant function of silver pomfret (*Pampus argenteus*) before and after Transportation were studied. Four experimental diets were designed, which used 100% fish oil (FO group), 70% fish oil+30% soybean oil (FSO group), 30% fish oil+70% soybean oil (SFO group) and 100% soybean oil (SO) as fat source, respectively. Four experimental dietary groups

*Corresponding author, associate professor, E-mail: shiming.peng@163.com （责任编辑 菅景颖）

chinaXiv:201711.01596v1

were designed: 100% fish oil (FO), 70% fish oil and 30% soybean oil (FSO), 30% fish oil and 70% soybean oil (SFO), and 100% soybean oil (SO). The silver pomfret with the average body weight of（17.2±6.7）g had been fed with these experimental diets for 60 days, and then they were being transported for 4 h. Each diet fed 3 tanks (replicates) with 50 fish per tank. The results showed as follows: After 4h transportation stress, serum cortisol concentration of each group was increased, and the change of SO group was significant that up-regulated to 1.89 folds ($P<0.05$), but the change of SFO group was lighter than other groups; serum glucose concentration of each group increased slightly, the change of each group was not significant ($P>0.05$), and the SFO group was the least one; then, serum lactate concentration of each group increased significantly ($P<0.05$), especially group SO. Brain acetyl-cholinesterase (AChE) activity of each group decreased significantly, and SFO was the highest group both before and after transportation; serum superoxide dismutase (SOD) activity of every group increased significantly ($P<0.05$), especially SO group; serum catalase (CAT) activity increased in all groups, but only SO group increased significantly ($P<0.05$); CAT activity in liver and muscle of SO group increased significantly ($P<0.05$), and the changes of other groups were not significant ($P>0.05$); serum SOD and CAT activities of SO group increased significantly ($P<0.05$). The results indicate that the health of silver pomfret in group SO were worse than other groups after transporting, and its stress response is more significant. It is suggested that the substitution of dietary fish oil with too much soybean oil is disadvantageous to transportation and health of silver pomfret. And it is important to keep the proper proportion of fish oil and soybean oil in the diet.

Key words: silver pomfret; transportation; fatty acid; stress; antioxidant function

chinaXiv:201711.01596v1